

Studien zum Problem der Beeinflussung
des menschlichen Albumins
durch Bakterien bzw. Bakterienfermente

von

MAX WIDL

1957

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor Professor Dr. med. H. S c h w i e g k .

Studien zum Problem der Beeinflussung des menschlichen
Albumins durch Bakterien bzw. Bakterienfermente.

Inaugural - Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von

Max W i d l

aus

Deisenhofen

München 1957

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr.med. F. H i l l e r .

Koreferent: Prof. Dr.med. H. S c h w i e g k .

Dekan: Prof. Dr.med. W. B i c k e n b a c h .

Tag der mündlichen Prüfung: 18.7.57.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>Einleitung</u>	5
<u>Besprechung der Literatur</u>	6 - 10
<u>Eigene Versuche</u>	11 - 36
Versuch 1: Nachweis auf human Albumin wirk- samer Exo- oder Endo-Proteasen von Staphylokokkus aureus	12
Versuch 2 : Elektrophoretischer Nachweis einer Veränderung von human Albumin durch Zerfallsprodukte von Staphylokokkus aureus	15
Versuch 3 : Wachstumsversuch von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, der nur 5 % Albumin enthält	20
Versuch 4 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, der neben 5 % Albumin auch gelöste, eigene Anteile (als Zerfalls- produkt des Staph.aur.) enthält	22
Versuch 5 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, bestehend aus 5 % Albumin versetzt mit gelösten Bakterientrümmern, dialysiert gegen gleichkonzentrierte Albuminlösung	25
Versuch 6 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, bestehend aus Albumin und Nukleinsäure	30
Versuch 7 : Wachstumsteste von Bakterium Coli in folgenden Nährböden: Human Albumin und Nukleinsäure, human Albumin und ge- löste Staphylokokkus aureus-Bestandteile, gelöste Staphylokokkus aureus-Bestand- teile und hum.Albumin jeweils zur Kon- trolle allein	32
Versuch 8 : Wachstum von Staphylokokkus aureus und Bakterium Coli in einem Nährboden, der nur gelöste Nukleinsäure ent- hält	34
<u>Besprechung der Ergebnisse:</u>	37 - 39
<u>Zusammenfassung</u>	40
<u>Literaturzusammenstellung</u>	41 - 43
<u>Lebenslauf</u>	45



Einleitung:

Das Rheumaleiden gilt heute allgemein als eine allergisch bedingte Systemerkrankung. Diese Auffassung hat zum ersten Male R ö s s l e und seine Schule (zitiert nach R o s t) klar nachweisen können.

Mit Hilfe von Vorstellungen, wie sie die Allergielehre sich zu eigen gemacht hat, lassen sich die klinisch manifesten Reaktionen bestimmten Körpergewebes (hier im Erscheinungsbild als Rheuma bezeichnet), erklären.

Die Grundfrage nach dem Wesen des auslösenden Faktors, der dann zum sichtbaren Bild rheumatischer Gewebsläsionen führt, findet auch so vorerst keine entsprechende Antwort. Das mag einmal an der Komplexizität rheumatischer Vorgänge selbst, zum anderen daran liegen, dass das Allergieproblem, um es mit R o s t auszudrücken, in vieler Beziehung heute noch als medizinisches Neuland anzusprechen ist.

Die Bemühungen um ein für die allergische Deutung rheumatischer Pathogenese zu postulierendes Allergen, finden in der Literatur ihren Niederschlag.

Besprechung der Literatur:

Die klinische Aehnlichkeit rheumatischen Geschehens mit einer Infektionskrankheit und mangelnder Nachweis von Erregern am Ort der entzündlichen Gewebsreaktionen führt zur Annahme des Fokus, wovon aus die Sensibilisierung des Organismus statthaben soll. Herdsanierung wäre demnach die Therapie bei Rheuma.

S c h u s t e r untersuchte an einem grösseren Krankengut die Erfolge nach Herdsanierung und kommt zum Schluss, dass nur in 25,2 % der Fälle eine Heilung zu verzeichnen war.

Daneben antworten offenbar nicht alle Menschen bei einer als Fokus zu bezeichnenden, chronischen Infektion mit rheumatischen Erscheinungen. So teilt S c h o - g e r mit, dass in 50 % solcher untersuchter Fälle Die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit regelrecht war und ausserdem lagen keinerlei subjektive Beschwerden vor.

P r i b r a m machte Ende vorigen Jahrhunderts bereits darauf aufmerksam, dass in einem hohen Prozentsatz vor dem Ausbruch des Rheumas eine Angina zu beobachten war. Diese Feststellung findet immer wieder ihre Bestätigung.

Der Umstand, dass Anginen zumeist durch Streptokokken ausgelöst werden und mit der Manifestation des Rheumas

serologische Befunde, wie zum Beispiel Erhöhung des Antistreptolysintiters, konform gehen, legte eine Streptokokkenätiologie des Rheumas nahe.

Hätten wir zu vorgenannter Annahme Berechtigung, dann müssten die von D e b r a y und Mitarbeitern vorgeschlagene Desensibilisierung oder auch eine aktive Immunisierung gegen die angeschuldigten Erreger gute Resultate zeigen. Gleichsinnig wäre ein Erfolg durch Antibiotika im Sinne von S c h o e n zu erwarten. Desgleichen dürften durch Tierversuche mit Streptokokken Anhaltspunkte für rheumatoide Gewebsreaktionen zu erbringen sein. Zu letzterem veröffentlicht R o b i n s o n , dass bei keinem von 280 Kaninchen, die intensiv und über längere Zeit mit verschiedenen Streptokokken und auch Staphylokokken infiziert wurden, Gewebsveränderungen im Sinne Aschoff'scher Knötchen gefunden wurden.

Zudem scheint auch nicht ein bestimmter Keim ätiologisch für rheumatisches Geschehen in Frage zu kommen. Dazu zählt H. S c h m i d t eine Reihe von Autoren auf, die im Gefolge von Erkrankungen mit anderen Keimen Rheuma beobachteten.

Hier darf angefügt werden, dass sogar im Verlauf einer Rötelerkrankung (L o u d o n) das Auftreten von Gelenkrheuma, wenn auch " gutartiger " Natur, mitgeteilt wurde.

Eigene Keimdifferenzierungen an mehr als hundert Zahnwurzelgranulomen liessen grundsätzlich eine Misch-

flora erkennen.

Das Vorhandensein von Mischflora im Munde, die aus unbekannten Gründen " plötzlich pathogen " werden soll, lässt G a l a t a eine Therapie mit Wismut und Antibiotica vorschlagen. Er berichtete in 12 eigenen Fällen gute Resultate gesehen zu haben.

Die Bezeichnung " plötzlich pathogen " werden, gibt Veranlassung an B i n g o l d zu erinnern, der immer wieder darauf hinwies, dass infolge der Abwehrkräfte des Organismus normalerweise parenteral sich nirgends Keime niederlassen, sondern sofort zu Grunde gehen. Setzen sich trotzdem irgendwo Keime fest, dann muss der befallene Gewebsabschnitt schon vorher in ein verändertes Verhalten zum übrigen Organismus getreten sein.

Bei diesem Gedanken taucht die Frage auf, ob denn überhaupt Streptokokken oder auch andere Keime ursächlich mit dem Rheuma in Beziehung zu bringen sind, oder ob nicht schon vor der Keimansiedlung der Grundstein zu späteren Gewebsreaktionen, die uns als Rheuma imponieren, gelegt ist.

In einem solchen Falle ist die Art des Keimes selbstverständlich zunächst gleichgültig. Ein erhöhter Antistreptolysintiter bewiese nur, dass eine Streptokokken-erkrankung stattgefunden hat (S t ö r m e r), die insofern in den anderweitig ausgelösten Prozess des Rheumas zeitlich hineinpasst, da die Keimansiedlung

innerhalb eines Zellverbandes aus oben genannten Gründen entsprechend ermöglicht wurde.

Die Frage nach einer Beteiligung bestimmter Keime lässt sich auch durch Einführung des Begriffes einer sogenannten " Auto-Allergie " in die Diskussion um ätiopathogenetische Probleme rheumatischen Geschehens nicht klären.

Einerseits erweist sich die künstliche Erzeugung von Auto-Antikörpern an das Vorhandensein von Bakterien gebunden und auf der anderen Seite zeigen die klassischen Versuche K l i n g e ' s , mit wiederholten, parenteralen Gaben artfremden Serums, dass es keiner bakterieller Antigene bedarf, um rheumatische Gewebsveränderungen auszulösen, die dem Bild des menschlichen Rheumatismus gleichen.

Nicht zuletzt folgern V o r l a e n d e r und Mitarbeiter aus experimentellen und klinischen Beobachtungen, dass Auto-Antikörper gegen Gefäßbindegewebe in Abhängigkeit von einem primären Infekt oder einer allergischen, im Gewebe ablaufenden Entzündung, entstehen. " Sie können damit nicht primäre Krankheitsursache " sein. Die vorgenannten Autoren vertreten die Anschauung, dass die Kenntnis von Stoffen, wie sie im Gefolge einer Entzündung gebildet werden, erforderlich ist.

S c h o e n weist ebenfalls darauf hin, dass im Mittelpunkt der humoralen Vorgänge beim Rheumatismus die entzündliche Reaktion steht.

Es scheint also die Mitbeteiligung, durch den Vorgang einer Entzündung, veränderter, körpereigener Substanzen beim Zustandekommen rheumatischer Erkrankungen eine gewisse Rolle zu spielen. Angesichts der oben erwähnten Möglichkeiten einer Erzeugung rheumatischer Gewebsreaktionen durch wiederholte, parenterale Gaben artfremden Serums muss wohl an verändertes Eiweiss gedacht werden.

Der Umstand, dass bei einer Entzündung eine Anhäufung von Albumin vorausgeht (" Albuminurie ins Gewebe "), gibt Veranlassung zunächst einmal diese Serumfraktion näher zu untersuchen. Auf Grund seiner Versuchsergebnisse nimmt E. H i l l e r an, dass die veränderte Serumfraktion human Albumin an der Sensibilisierung des Organismus im Rahmen des Herdgeschehens teilhat. Der genannte Autor konnte am Beispiel der Zahnbehandlung nachweisen, dass zumindest " iatrogene " Massnahmen das Albumin derart zu verändern vermögen, dass es mit anderen physiologischen Eigenschaften aufwartet.

Inwieweit nun ein Keim in der Lage ist, an der Veränderung körpereigenen Albumins mitzuwirken, sollte durch diese Arbeit, vornehmlich am Beispiel des Staphylokokkus aureus, durch entsprechende Versuche näher geklärt werden.

Eigene Versuche:

Soll arteigenes Eiweiss als Allergenquelle angesprochen werden, so muss die Arteigentümlichkeit dieses Eiweisskörpers verloren gegangen sein. Durch körpereigene Fermentsysteme teilweise abgebautes oder umgelagertes Eiweiss kann wohl nicht als Allergen gelten. Die Abbaustufen besitzen die Spezifität des Ausgangsproduktes, wenngleich nur in abgeschwächter Form (siehe Fermo-Seren).

Zunächst lag nun der Gedanke sehr nahe, dass durch Bakterienproteasen Möglichkeiten eines atypischen Albuminabbaues vorliegen können. Im Verein mit Bakterien kann entweder das Molekül des Albumins durch Proteasenwirkung abgebaut, also "de-molliert", oder aber durch Reaktion mit Substanzen aus Bakterien zu einem physiologisch anders wirksamen Agens werden.

Im Falle einer Aufspaltung des genannten Eiweisskörpers durch Bakterienproteasen darf neben der Möglichkeit einer Entstehung atypischer Spaltprodukte auch an den Vorgang einer Aggregation solcher Endprodukte zu nunmehr physiologisch anders reagierenden Körpern gedacht werden.

Durch Reaktion mit Bakteriensubstanzen oder deren Stoffwechselprodukten besteht ebenfalls die Möglichkeit einer Veränderung körpereigenen Eiweisses, das durch derartige Vorgänge seine ursprüngliche Spezifität einbüsst und so als Allergen in Betracht zu ziehen ist.

Die Wahl eines entsprechenden Testkeimes fiel auf den *Staphylokokkus aureus*, der, wie bereits oben erwähnt, bei vorausgegangenen Keimdifferenzierungen an Zahnwurzelgranulomen in der Mehrzahl der untersuchten Fälle vorzufinden war.

Zur Ueberprüfung von Veränderungen des verwendeten Eiweisses wird die Methode der Elektrophorese benutzt. Als Eiweissquelle dient ein von der Firma " B e h - r i n g " zur Verfügung gestelltes human Albumin in 20 %-iger Lösung.

V e r s u c h 1: Nachweis auf human Albumin (HA) wirksamer Exo- oder Endo- Proteasen von *Staphylokokkus aureus*.

Methodik: Eine Gewinnung von Exo- oder Endo- Proteasen aus *Staphylokokkus aureus* geschieht nach den üblichen, bakteriologischen Arbeitsmethoden (siehe Reiner M ü l - l e r).

Die nach vorgenannter Methode erhaltenen Aufschwemmungen werden der 20 %-igen Albumin enthaltenden Konserve der Firma " B e h r i n g " zugesetzt, sodass eine Lösung entsteht, die neben 5 % Albumingehalt auch entsprechende Anteile von Exo- oder Endo- Proteasen des verwendeten Keimes enthält. Die Wasserstoffionenzahl dieses Gemisches beträgt $\text{pH} = 7,2$.

Ergebnis: Alle Versuche des elektrophoretischen Nachweises einer durch Bakterien verursachten " Depolymerisation "

des Albumins lieferten in keiner Weise einen positiven Befund. Es konnten weder Exo- noch Endo- Proteasen von Staphylokokkus aureus, daneben auch von Mikrokokkus tetragenus und Bakterium Coli nachgewiesen werden.

Die Möglichkeit einer Entstehung atypischer Albuminabbauprodukte durch Vermittlung von Bakterien-Proteasen muss, wenigstens nach vorliegendem Untersuchungsergebnis, als zweifelhaft angesehen werden.

Auch ein Herabsetzen der Wasserstoffionenzahl auf Werte, wie sie bei einer Entzündung auftreten, etwa $\text{pH} = 5,0$ (isoelektrischer Punkt des Eiweisses !), liessen bei den genannten Keimen ebenfalls keine elektrophoretisch darstellbare Veränderungen des Albumins sichtbar machen.

Ausgehend von der Erkenntnis, dass Albumin durch tryptische Fermente schwer angreifbar ist, " denaturierten " wir Albumin mit Harnstoff. Auch so waren die verwendeten Keime nicht in der Lage das Albumin im Sinne einer " Depolymerisation " zu beeinflussen.

Die zweite durch das Experiment zu klärende Frage nach Reaktionen von Bakterien-substanzen mit human Albumin (HA) lässt sich folgendermassen betrachten:

Bei der Berührung von Bakterien mit HA (human Albumin) können einmal Stoffwechsel- oder Stoffwechselend- Produkte und zum anderen die beim Zerfall von Bakterien freiwerdenden intrazellulären Bestandteile Reaktionen mit dem HA

eingehen.

Im Falle von Stoffwechselendprodukten handelt es sich wohl grundsätzlich um relativ niedermolekulare Produkte, die sich elektrophoretisch schlechter kennzeichnen lassen. An dieser Stelle darf gleich vorweggenommen werden, dass sich mit den Methoden der Elektrophorese selbst bei Anhäufung von Stoffwechselendprodukten aus *Staphylokokkus aureus* keine markanten Veränderungen des verwendeten HA erkennen liessen.

Die Tatsache, dass innerhalb des menschlichen Organismus auch Keime zu Grunde gehen können, gibt Veranlassung jene beim Zerfall von Bakterien freiwerdenden, vermutlich hochmolekularen Bestandteile etwas näher zu untersuchen. Wenn es auch nicht Aufgabe vorliegender Arbeiten sein konnte, eine genaue Identifizierung des Zerfallsproduktes durchzuführen, so gewinnt im Rahmen der Fragen nach Veränderungen körpereigenen Eiweisses der Kontakt des HA mit Zerfallssubstrat von Bakterien prinzipiell an Bedeutung.

In diesem Zusammenhang sei auf H a u r o w i t z verwiesen, der Bindungsmöglichkeiten von Albumin mit Nukleinsäuren beschreibt, wobei neben einer festen Bindung auch der kolloidosmotische Druck des Proteins verloren geht.

V e r s u c h 2 : Elektrophoretischer Nachweis einer Veränderung von HA durch Zerfallsprodukte von Staphylokokkus aureus.

Methodik: Bei dieser Untersuchung kommt es darauf an, in geeigneter Weise die beim Zerfall des Keimes freiwerdenden Produkte zu gewinnen, dem Albumin zuzufügen und Veränderungen des zuletzt genannten Proteins nachzuweisen.

Zum Sichtbarmachen einer Veränderung des HA gelangt die Methode der Elektrophorese zur Anwendung bei einem Puffer = Na-Veronal-Veronal und einer Wasserstoffionen-zahl $\text{ph} = 8,6$. Verwendeter Farbstoff ist Amidoschwarz 10B und Ninhydrin.

Die Massnahme eines elektrophoretischen Nachweises zwingt dazu erst einmal jene dem Albumin zuzusetzenden Bakterienbestandteile darzustellen, um störende Eiweisskomponenten aus den Bakterien herrührend berücksichtigen zu können.

Aus diesem Grunde wurde in einem Vorversuch auf 10 Gussagarplatten Staphylokokkus aureus mit einem D r i - g a l s k y - Spatel dicht verimpft und die nach 12-stündiger Bebrütung bei 37 Grad Celsius gewachsenen Keime mit sterilem aqua bidest abgeschwemmt. Die so gewonnenen Keime wurden mehrmals mit sterilem aqua bidest durch Zentrifugieren von Nährbodenbestandteilen und Stoffwechselendprodukten gesäubert.

Eine vom zuletzt benutzten Waschwasser in absteigen-

der Methode angefertigte Papierchromatographie als Kontrolle, zeigte keinerlei ninhydrinpositive Substanzen.

Unter Verwendung von 10 ccm aqua bidest als hypotoner Lösung und nach 12 - stündiger Bebrütung bei 37 Grad kamen ein Teil der Bakterien zum Platzen. Nach Abzentrifugieren der restlichen Keime war die überstehende Flüssigkeit getrübt. Der Ueberstand wurde etwa auf die Hälfte bei 35 Grad Celsius im Vacuum eingedickt und weiter untersucht. Es liessen sich jedoch elektrophoretisch auch bei unterschiedlichen Laufzeiten (2, 4, 6 und 8 Stunden) keine höhermolekularen Bestandteile mit Sicherheit nachweisen. Eine Kontrolluntersuchung mit der absteigenden Papierchromatographie zeigte lediglich 7 ninhydrinpositive Fraktionen, auf deren genaue Identifizierung verzichtet wurde.

Ein solches Ereignis kann entweder als lytische Wirkung jener beim Zerfall der Keime freiwerdenden Ferment-systeme gedeutet werden oder die intrazellulären Eiweiss-anteile gehen nicht in Lösung, da es sich um ein elektrolytfreies Lösungsmittel (aqua bidest) handelt.

Um die in den Bakterien enthaltenen Eiweissanteile elektrophoretisch sichtbar zu machen, musste also an eine Fermenthemmung und ein geeignetes Lösungsmittel gedacht werden.

Ein die Fermentwirkung hintanhaltendes Mittel in Gestalt von J_2 und 0,9 %-iger NaCl als Lösungsmittel erwiesen

sich zunächst als brauchbar, jedoch stört anwesendes Jod den Vorgang der Elektrophorese und andererseits werden durch die Anwesenheit von Jod Verhältnisse geschaffen, die den geforderten Versuchsbedingungen widersprechen.

Als brauchbarstes Mittel einer Fermenthemmung erwies sich Kälte. Die Gewinnung einer entsprechenden Menge von Staphylokokkus aureus geschieht in der bereits beschriebenen Weise mit dem Unterschied, dass die Keime nicht mit Aqua bidest, sondern mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und gewaschen werden. Der nach dem letzten Zentrifugieren abgesetzte, dicke Brei, bestehend aus Bakterien und wenig physiologischer Kochsalzlösung wird in einer vorher auf 4 Grad Celsius abgekühlten Reibschale mit Quarzsand unter dauernder Kühlung eine Stunde lang verrieben. Das Ganze wird mit 5 ccm auf 4 ° Celsius abgekühlten isotonischen Kochsalzlösung versetzt und der erhaltene, dicke Brei abzentrifugiert.

Das Ergebnis eines elektrophoretischen Eiweissnachweises der überstehenden Flüssigkeit zeigt Abbildung 1 b einmal mit Amidoschwarz und daneben mit Ninhydrin angefärbt. Dabei fällt allerdings auf, dass die dargestellten Eiweissanteile nicht als einzelne Fraktionen in Erscheinung treten, sondern das ganze ineinander überzugehen scheint. Zur Erklärung dieser Erscheinung diene die Feststellung, wonach während der 6-stündigen Laufzeit der elektrophoretischen Trennung keine Fermenthemmung mehr durchgeführt wurde und so eine Fermentwirkung möglich ist.

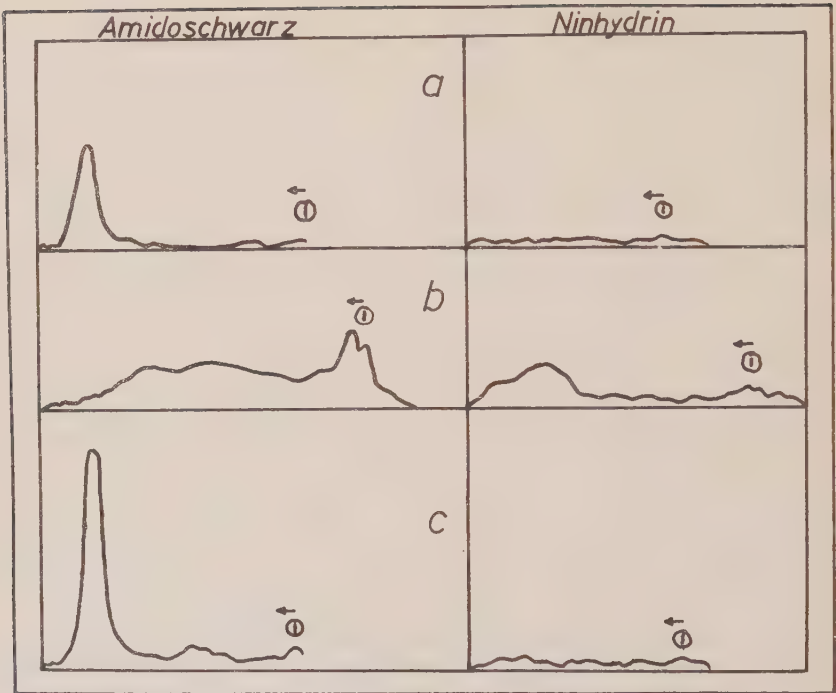


Abbildung 1 :

Elektrophoresen von

a = 5 % human Albumin enthaltende Lösung allein.

b = Intrazelluläre Anteile verriebener Staphylokokken mit Kälte als Fermenthemmung und 0,9 % NaCl als Lösungsmittel.

c = 5 % human Albumin vermischt mit dem unter "b" genannten Substrat.

Puffer: Na-Veronal-Veronal, ph = 8,6.

Farbstoff: links Amidoschwarz 10 B, rechts Ninhydrin.

Laufzeit: 6 Stunden.

Nach Klärung der Verhältnisse durch den Vorversuch, konnte einer Lösung der Frage nach Veränderungen des HA durch Bakteriensubstanzen, wie sie beim Zerfall des Staphylokokkus aureus entstehen, entsprochen werden.

Die gemäss des Vorversuches unter Kühlung erhaltenen Bakterienfragmente werden der 20 %-igen Albuminlösung zugesetzt, sodass neben dem genannten Substrat aus Bakterien ein 5 %-iger Albumingehalt der Gesamtlösung resultierte. Davon wird eine Elektrophorese angefertigt (siehe Abbildung 1 c). Wie im Vergleich dazu eine 5 %-ige Albuminlösung (hergestellt durch entsprechendes Verdünnen der 20 %-igen Albuminlösung mit physiologischer Kochsalzaufschwemmung) ohne Bakteriensubstanzen sich darstellt, bringt Abbildung 1 a zum Ausdruck.

Das in Abbildung 1 c dargestellte Gemisch lässt sich auch durch mehrtägiges Bebrüten, wobei zur Vermeidung von Ausdunstung luftdicht abgeschlossen wird, nicht mehr verändern. Demgegenüber nimmt die elektrophoretische Darstellbarkeit der gelösten Bakterientrümmern bei Bebrütung ab.

Ergebnis: Wir sehen durch Zugabe von Bakteriensubstanz zum Albumin ein scheinbares Ansteigen der Albuminfraktion. Ein solcher Vorgang wird als " Denaturierung " bezeichnet und lässt sich am besten mit einer von W u aufgestellten Theorie erklären. Demnach strecken sich die Seitenketten des Albuminmoleküles und geben reaktionsfähige Gruppen

frei, was sich mit den elektrophoretischen Messmethoden als vermehrte Farbstoffbindung (zitiert nach H a u r o - w i t z) äussert.

Wenn nun, wie bisher versucht wurde darzutun, die angeführten Keime keine auf Albumin eingestellte Proteasen besitzen, so trat nunmehr die Frage auf, ob den Bakterien in einer nur Albumin enthaltenden Lösung, Wachstumsmöglichkeiten geboten werden.

Die Wahl des Keimes fiel wiederum auf den Staphylokokkus aureus, weil dieser Keim einen recht anspruchsvollen Vertreter seiner Art darstellt.

V e r s u c h 3 : Wachstumsversuch von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, der nur 5 % Albumin enthält.

Methodik: In jeweils eine 5 %-ige Albuminlösung, die aus den 20 %-igen Chargen Albumin - "Behring" Op.Nr.: 638/646, Op.Nr.: 674/679 und Op.Nr.: 721 durch Verdünnen mit Ringlösung hergestellt werden, verimpften wir besagten Staphylokokkus aureus. Als Zählmethode wird die Plattenzählmethode angewandt, da Vorversuche nephelometrische Messungen eines Keimwachstums ungeeignet erscheinen liessen. Eine Trübung ist eben nicht einem tatsächlichen Wachstum gleichzusetzen.

Das Ergebnis dieser Versuchsanordnungen zeigt die Abbildung 2 für die drei verwendeten Albumin-Chargen mit Ver-

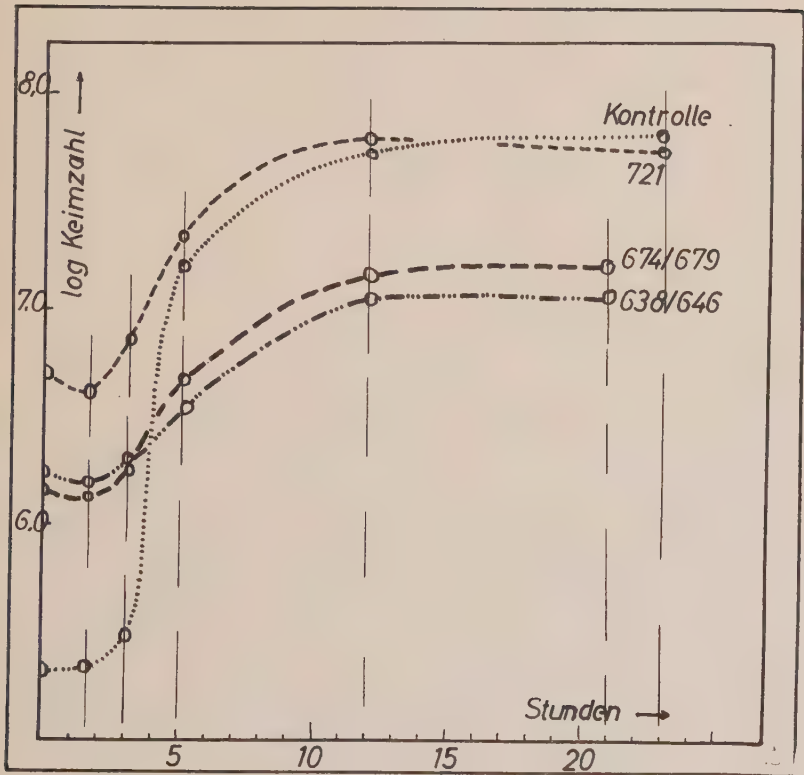


Abbildung 2 :

Wachstumskurven von *Staphylokokkus aureus* in verschiedenen Chargen human Albumin, die mit Ringerlösung auf einen 5 %-igen Albumingehalt verdünnt sind.
Zum Vergleich das Wachstum von *Staphylokokkus aureus* in Nährbouillon "Standard I Merk".

gleich einer Wachstumskurve desselben Keimes in Bouillon (Standard I "Merk"). Demnach wächst Staphylokokkus aureus immerhin in Albumin, wenn auch nicht so gut, wie in der Vergleichssubstanz Nährbouillon, ohne, dass sich elektrophoretisch eine Albuminveränderung zeigte.

Zur Erklärung dieses möglichen Wachstums des Versuchskeimes kann man H a u r o w i t z anführen, der Bindungsmöglichkeiten verschiedenster Substanzen an den Albuminkomplex annimmt.

Wir waren nun der Meinung, dass auf dem Wege über Austauschreaktionen die an das Albumin geketteten, lebensnotwendigen Stoffe für Bakterien frei würden. Aus dem anfänglichen leichten Absinken der Keimzahl gegenüber Bouillon glaubten wir mit Sicherheit annehmen zu müssen, dass erst aus einer Reihe abgestorbener Keime Substanzen für diese Austauschreaktion bereitgestellt werden müssen.

V e r s u c h 4 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, der neben 5 % HA auch gelöste eigene Anteile des Zerfallsproduktes enthält.

Die vorerwähnten Gedankengänge führten dazu dem Albumin in genügender Menge lösliche Anteile verriebener Staphylokokken beizufügen und in diesem Gemisch das Wachstum von Staphylokokkus aureus zu studieren.

Methodik: Die Gewinnung des Nährbodens gestaltet sich

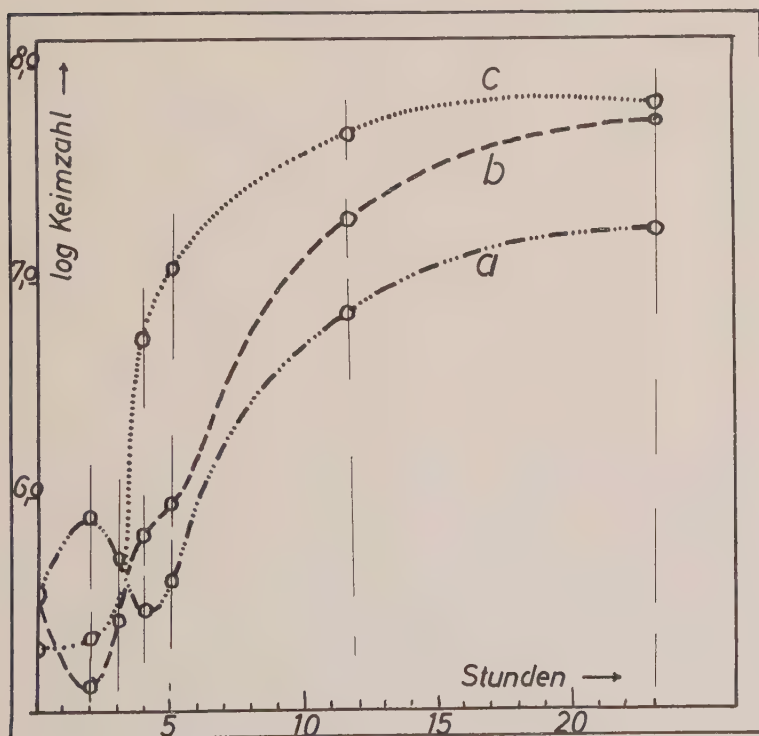


Abbildung 3 :

Wachstumskurven von *Staphylokokkus aureus* in folgenden Nährböden:

a = Gelöste Anteile verriebener *Staphylokokken*.

b = 5 % Albumin und gelöste Anteile verriebener *Staphylokokken*.

c = Kontrolle in Nährbouillon "Standard I Merk".

nach der in Versuch 2 beschriebenen Weise. Eine entsprechende Elektrophorese dieses Nährbodens zeigt die Abbildung 1 c .

Hofften wir auf diese Weise das Absinken der Keimzahl während der ersten 1 1/2 Stunden Bebrütungszeit zu verhindern, so beweist mehr als Worte die Abbildung 3 gerade das Gegenteil. Die Keimzahl sinkt in den ersten zwei Stunden merklich weiter ab. Der Kontrollversuch, der als Nährboden seine eigenen, gelösten Bestandteile enthält, zeigt in den ersten zwei Stunden ein gegenteiliges Wachstum von *Staphylokokkus aureus*.

Bei den Ergebnissen vorliegender Untersuchungsanordnung handelt es sich doch offenbar um einen erworbenen, "antibakteriellen" Effekt des verwendeten Albumins, denn Kontrollversuche mit Bouillon ergaben keinen Anhalt für ein ähnliches Verhalten. Die genannte Versuchskontrolle, wobei die verwendete Albuminlösung mit Bouillon von 20 auf 5 % verdünnt wurde, erbrachte eine Wachstumskurve von *Staphylokokkus aureus*, die durchaus der einer Wachstumskurve von Bouillon ohne Albuminzusatz glich.

Wenn der beobachtete "antibakterielle" Effekt des Albumins mit irgendeinem Reaktionsvermögen zusammenhängt, so muss es möglich sein durch erneutes Zuführen reaktionsfähiger Albuminmoleküle einen grösseren Keimabfall zu erreichen.

Dialyse des beimpften Nährbodens, wie er in Versuch 4 Verwendung fand, gegen eine reine, gleichkonzentrierte Albuminlösung ohne Zusatz von Bakterientrümmern ist vermutlich ein Weg den antibakteriellen Albumineffekt zu verstärken.

V e r s u c h 5 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden bestehend aus 5 % Albumin, versetzt mit gelösten Bakterientrümmern, dialysiert gegen eine gleichkonzentrierte reine Albuminlösung.

Der beimpfte Nährboden hat wiederum einen Gesamtgehalt von 5 % Albumin, dem in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Substanzen verriebener Staphylokokken beigemischt werden. Genaue Herstellung siehe Versuch 2.

Als Dialysemembran findet ein Tonzylinder Verwendung, der nach vorausgehenden Untersuchungen als bakteriendicht und durchlässig für Eiweiss gelten konnte.

Abbildung 4 gibt Aufschluss über das Wachstum des Versuchskeimes, wobei gleich zu Beginn der Bebrütung die Dialyse durchgeführt wird und Abbildung 5 zeigt das Wachstum, wenn die Dialyse erst nach 1 1/2 Stunden einsetzt.

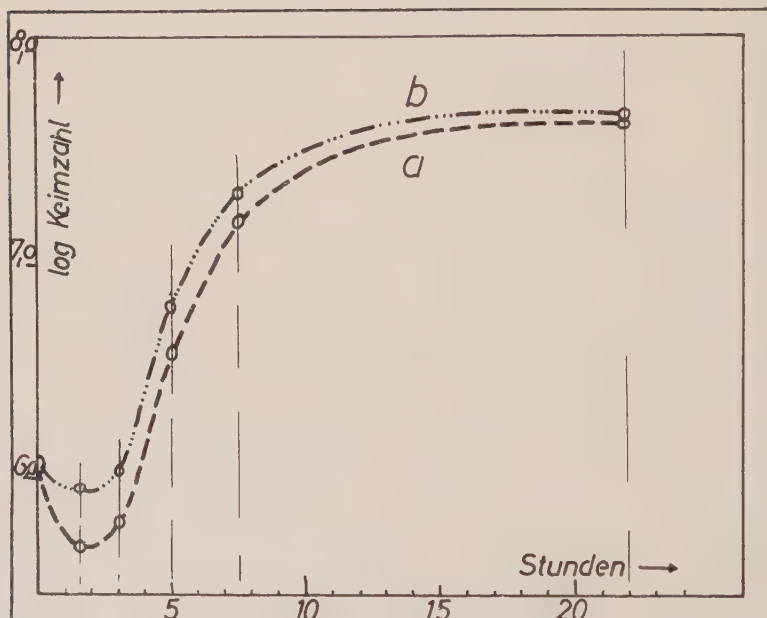


Abbildung 4 :

Wachstumskurven von *Staphylokokkus aureus* in

- a = 5 % Albumin und gelöste Anteile verriebener Staphylokokken, dialysiert gegen reines ebenfalls 5 %-iges Albumin zu Beginn der Bebrütung.
- b = Derselbe Nährboden wie "a", nur ohne Dialyse.

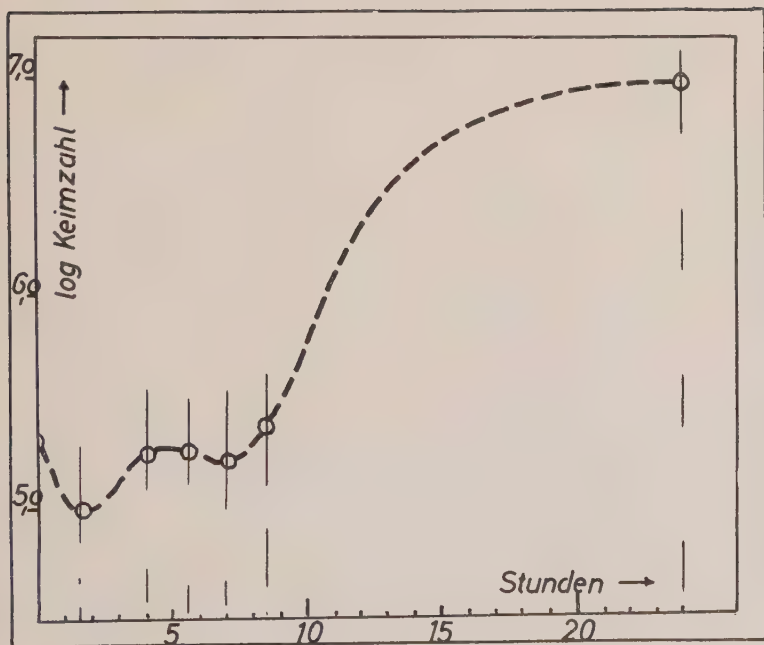


Abbildung 5 :

Wachstum von *Staphylokokkus aureus* in 5 % Albumin und gelöste Anteile verriebener *Staphylokokken*.
Nach 1 1/2 Stunden Einsetzen der Dialyse gegen reines, ebenfalls 5 %-iges Albumin.

Hier erscheint geradezu der Beweis erbracht zu sein, dass der zu Beginn des Wachstums auftretende, antibakterielle Effekt des Albumins irgendwie mit dem Reaktionsvermögen des Albuminmoleküls in Zusammenhang stehen müsse.

Wie weiter oben gezeigt, führt Zugabe von Bakterien-substanzen zum Albumin eine Veränderung der Reaktionsfähigkeit des Albumins herbei, die sich als vermehrte Farbstoffbindung äussert. Es bleibt anzunehmen, dass Albumin durch sein veränderliches Bindungsvermögen eine antibakterielle Fähigkeit von Natur aus besitzt.

Wenn nun diese " Denaturierung " des Albumins auch mit anderen Substanzen zuwege gebracht werden kann, dann müsste ganz allgemein ein " denaturiertes " Albumin antibakterielle Eigenschaften erworben haben. Dies liess sich jedoch weder durch Zugabe von Harnstoff noch durch Zugabe von Bouillon, wie bereits oben erwähnt, nachweisen.

Es taucht aber auch der Gedanke auf, ob nicht die Vereinigung von Stoffen aus Bakterien mit Albumin ein Reaktionsprodukt mit den genannten Eigenschaften erst erzeugt. Das würde also bedeuten, dass sich aus dem Kontakt mit Albumin ein antibakterieller Körper komplettiert .

Im Rahmen einer Suche nach möglicher Bildung anderswirkender Stoffe, die aus körpereigenen Substanzen entstanden zu denken sind, gewinnt die Klärung der Frage nach solchen Wirkungsmechanismen eine besondere Bedeutung.

Derartige Gedankengänge dürfen jedoch durchaus nicht als neu gewertet werden, denn hier würden sich unsere

Anschauungen mit denen einer " künstlichen " Antikörperbildung aus Serumfraktionen nach Beobachtungen der amerikanischen Autoren P a u l l i n g und C a m p b e l l decken.

Der Umstand, dass an der Oberfläche des Testkeimes Staphylokokkus aureus sich Nukleinsäuren vorfinden und andererseits Nukleinsäuren eine feste, chemische Bindung mit Albumin (siehe H a u r o w i t z) eingehen sollen, wobei der kolloidosmotische Druck des Proteins verloren geht, gab Veranlassung das Wachstum des Testkeimes in einem Nukleinsäure-Albumingemisch zu überprüfen.

Bei einem Vorversuch im Lochtest handelte es sich zunächst um ein " cialithaltiges " Albumin, wie ein Kontrollversuch mit dem verwendeten Albumin allein bewies. Zugabe von Nukleinsäurelösung zu cialithaltigem Albumin verstärkte die Cialitwirkung hinsichtlich Bakterizidie beträchtlich. Angeblich soll Cialit eine schwer trennbare Verbindung mit Albumin eingehen. Es ist also zunächst denkbar, dass durch Zugabe von Nukleinsäure das Cialit aus seiner Verbindung mit dem Eiweiss verdrängt und nunmehr zur vollen Wirkung gebracht wurde.

Zur Entscheidung der damit zusammenhängenden Fragen verwendeten wir ein Albumin, das uns in dankenswerter Weise von der Firma " B e h r i n g w e r k e " zur Verfügung gestellt wurde. Nach Mitteilungen von Herrn Professor S c h u l t z e enthält das Präparat kein Cialit (Op.Nr.: 789).

V e r s u c h 6 : Wachstumsversuche von Staphylokokkus aureus in einem Nährboden, bestehend aus Albumin und Nukleinsäure.

Methodik: Die vorgenannte 20 %-ige Albuminlösung wurde mit gelöster Nukleinsäure verdünnt, so dass ein 5 %-iger Albumingehalt resultierte.

Herstellen der Nukleinsäure: Zu 5 % Natriumkarbonat werden soviel an Menge des Trockenpräparates " Heferibonukleinsäure reinst " nach " B a y e r " gegeben, bis sich nichts mehr löst. Dann wird mittels HCl vorsichtig auf $\text{pH} = 7,2$ titriert und durch " S e i t z - Filter " entkeimt.

Wie in einer solchen Lösung Staphylokokkus aureus wächst, gibt Abbildung 6 wieder.

Ergebnis: Die graphische Darstellung zeigt ein Wachstum des Testkeimes in dem Nährboden, dem Nukleinsäure zugesetzt ist, das auf schlechtere Wachstumsbedingungen schliessen lässt.

In diesem Zusammenhang war es auch von Interesse, ob andere Keime eine Veränderung ihres Wachstums nachweisen lassen, wenn sie unter gleichen Bedingungen wachsen.

Als Vertreter einer anderen Keimgruppe gelangt der " grampositive " Keim Bakterium Coli zur Testung. Eine entsprechende Versuchsanordnung wird in nachfolgendem Versuch geschildert.

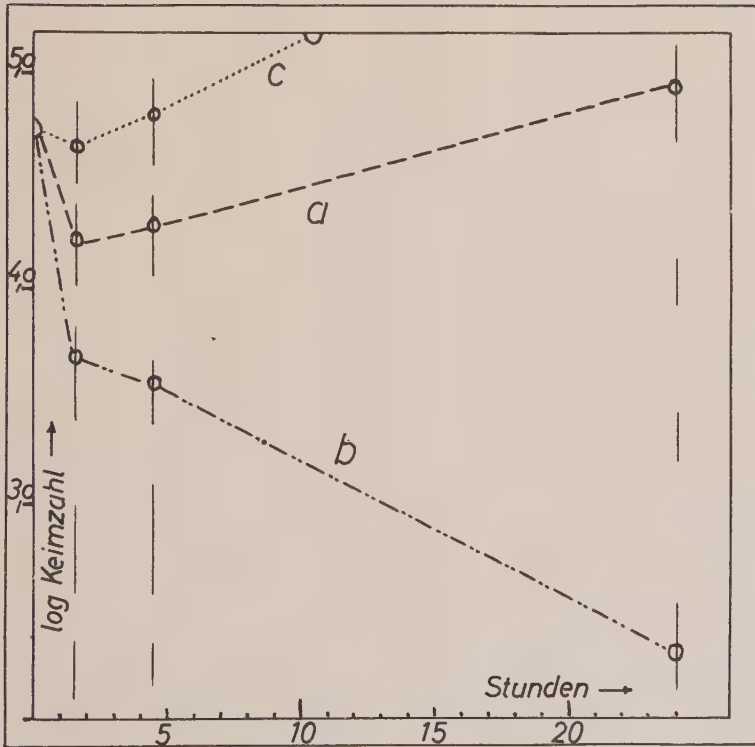


Abbildung 6 :

Wachstum von Staphylokokkus aureus in

a = 5 % Albumin vermischt mit Staphylokokkus aureus-fragmenten.

b = 5 % Albumin mit gelöster Nukleinsäure.

c = 5 % Albumin allein.

V e r s u c h 7 : Wachstumsteste von Bakterium Coli in folgenden Nährböden: Human Albumin und Nukleinsäure, human Albumin und gelöste Staphylokokkus aureus-Fragmente, gelöste Staphylokokkus aureus-Fragmente und human Albumin jeweils zur Kontrolle allein.

Methodik: Die Durchführung dieses Versuches gestaltet sich hinsichtlich der einzelnen Nährböden-Ansätze genau nach den bisher beschriebenen Methoden, lediglich wird statt Staphylokokkus aureus das Bakterium Coli in die einzelnen Ansätze verimpft.

Das Wuchsverhältnis in den einzelnen Nährboden- Ansätzen bringt die Abbildung 7 zum Ausdruck.

Ergebnis: Das Wachstum von Bakterium Coli im Ansatz human Albumin vermischt mit Nukleinsäure ist im Vergleich zum Wachstum von Staphylokokkus aureus in der gleichen Lösung als schlechter zu beurteilen (Vgl.: Abb. 7 d mit Abb. 6 b). Im Nährboden human Albumin und gelöste Staphylokokkus aureus-Fragmente wächst Bakterium Coli gegenüber Staphylokokkus aureus ebenfalls schlechter (Vgl.: Abb. 7 c und 3 b). Jedoch ist das anfängliche Absinken der Keimzahl weniger deutlich ausgeprägt. Im human Albumin allein findet Bakterium Coli weniger gute Wachstumsvoraussetzungen wie Staphylokokkus aureus. Demgegenüber steigt die Keimzahl von Bakterium Coli im Ansatz, der nur gelöste Staphylokokkus aureus-Fragmente enthält, an (Vgl.: Abb. 7 a und 3 a).

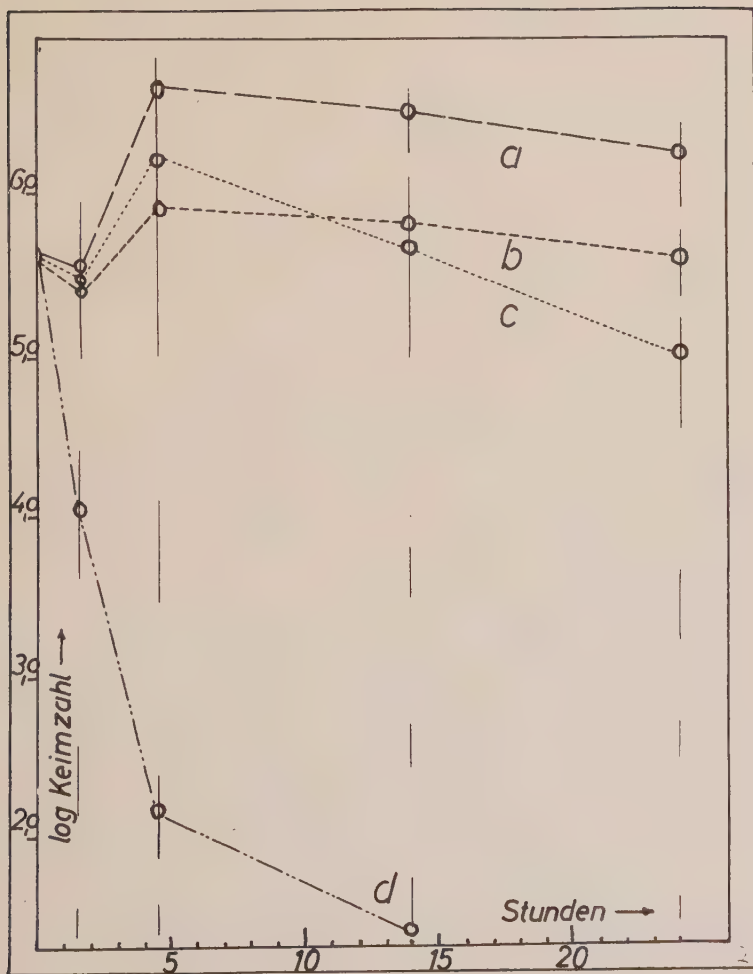


Abbildung 7 :

Wachstum von Bakterium Coli in:

a = gelöste Staphylokokkus aureus-Fragmente allein.

b = 5 % Albumin allein.

c = 5 % Albumin und Staphylokokkus aureus-Fragmente.

d = 5 % Albumin und gelöste Nukleinsäure.

Durch einen weiteren Versuch von Wachstum der beiden Testkeime *Staphylokokkus aureus* und *Bakterium Coli* können Bedenken, die einer Beeinflussung durch Substanzen zuzuschreiben sind, welche sich möglicherweise in dem verwendeten Nukleinsäure-Präparat vorfinden, zerstreut werden.

V e r s u c h 8 : Wachstum von *Staphylokokkus aureus* und *Bakterium Coli* in einem Nährboden, der nur gelöste Nukleinsäure enthält.

Methodik: Die Herstellung der Nukleinsäure geschieht nach der oben beschriebenen Methode. Als Nährböden gelangen vier Ansätze zur Verwendung, in die jeweils die Testkeime verimpft und deren Wachstum mittels Plattenzählmethode bestimmt wird.

Die Nährböden: Nukleinsäure unverdünnt, Nukleinsäure verdünnt (also in der gleichen Konzentration wie in den vorigen Versuchen) einmal mit physiologischer Kochsalzlösung, dann mit Bouillon und daneben als Kontrolle Bouillon allein (Bouillon "Standard I Merk").

Da sich das Wachstum der beiden Testkeime unter gleichen Bedingungen ähnlich gestaltet, sei hier in Abb. 8 nur das Verhalten von *Bakterium Coli* gezeigt.

Ergebnis: Die Testkeime vermehren sich in einem nur Nukleinsäure enthaltenden Nährboden zwar schlecht, aber immerhin ist ein leichter Keimanstieg nach 24 Stunden

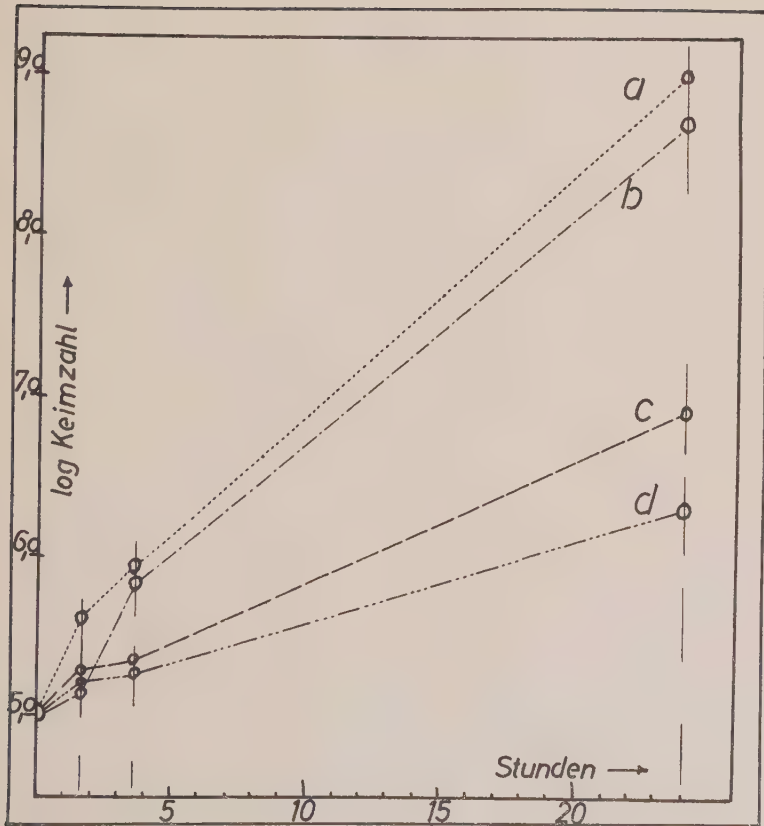


Abbildung 8 :

Wachstum von Bakterium Coli in:

- a = Nukleinsäure verdünnt mit Bouillon.
- b = Bouillon unverdünnt allein.
- c = Nukleinsäure mit Kochsalzlösung (0,9 %) verdünnt.
- d = Nukleinsäure allein (unverdünnt).

zu verzeichnen. Kochsalz mit Nukleinsäure zeigt ebenfalls Keimvermehrung und Nukleinsäure mit Bouillon verdünnt bringt eine Wachstumsförderung gegenüber Bouillon allein.

Nach allgemeinen, bakteriologischen Erkenntnissen überrascht zunächst das mögliche Wachstum eines Keimes in Nukleinsäure allein. Wissen wir doch, dass nicht nur ein einziger, sondern eine ganze Reihe von "Wuchsstoffen" notwendig sind, um ein Keimwachstum zu gewährleisten. Man ist folglich zur Annahme gezwungen, dass ausser der Ribonukleinsäure noch weitere Wuchsstoffe vorhanden sein müssen.

Angesichts einer solchen Erkenntnis muss der Versuch einer Klärung, mit welcher Substanz sich das Albumin zu einem "antibakteriell" wirkenden Agens verbindet, als misslungen betrachtet werden.

Es bleibt also lediglich die Beobachtung einer erworbenen, unspezifischen antibakteriellen Wirkung des human Albumins, das mit irgendwelchen anderen Stoffen in Berührung kommt, ohne sagen zu können, welche Substanz den Vorzug genießt.

Besprechung der Ergebnisse:

Das aufgeworfene Problem, Veränderungen an der Serum-eiweissfraktion human Albumin durch Bakterien nachzuweisen, stösst insofern auf Schwierigkeiten, als es mit den relativ groben Methoden der Elektrophorese nicht gelingt geringgradige Unterschiede und vorallem kleine Mengen eines Eiweisskörpers aufzuzeigen.

Wenn aus dem ersten Versuch kein eindeutiges Ergebnis entnommen werden konnte, so darf es dem Wesen der elektrophoretischen Untersuchungsmethoden zugeschrieben werden. Es erscheint durchaus möglich, dass in geringem Masse Albumin durch Bakterienfermentsysteme abgebaut wird. Es lässt sich vielleicht deshalb nicht nachweisen, weil die Vermehrung des Abbauproduktes zu einer Veränderung des Reaktionsvermögens von Albumin, was sich in einer höheren Farbstoffbindung äussert, führt.

Auffallend bleibt jedenfalls, dass die verwendeten Testkeime in Albumin Stoffumsetzungen tätigen, was aus der Keimvermehrung geschlossen werden muss. Dabei lassen sich keine Veränderungen des Albumins elektrophoretisch nachweisen.

Bei Ueberschüttung des Albumins mit bestimmten Substanzen resultiert elektrophoretisch eine Veränderung des Albumins, die eine Proteinvermehrung vortäuscht. Inwieweit einem solchen Vorgang der " Denaturierung " Bedeutung im Rahmen von Fragen des Herdgeschehens zukommt, kann nicht

entscheiden werde.

Wenn auch die deinen Veränderungen des Proteins mittels elektrophoretischer Untersuchungen nicht erfasst werden können, so zeigen doch die aus den Versuchen in zwangloser Folge sich ergebenden Wachstumsteste, dass in Anwesenheit anderer Substanzen human Albumin zu bestimmten Reaktionen in der Lage ist.

Immerhin weisen die Wachstumsäusserungen der Keime darauf hin, dass sich im Nährboden etwas verändert haben muss.

Ein sicheren Nachweis zu führen für eine bestimmte Substanz, die mit dem Albumin zusammen den antibakteriellen Effekt hervorruft, gelang im Rahmen gegebener Untersuchungsmethoden nicht. Es liegt jedoch sehr nahe anzunehmen, dass in den Bakterienzellen vorhandenes Substrat mit dem Albumin ein Reaktionsprodukt bildet, das dann die Keime im Wachstum behindert (die verwendete Nukleinsäure ist ebenfalls als Zellextrakt aus Hefezellen aufzufassen).

Die Annahme eines erst entstehenden, nicht auf einen bestimmten Keim eingestellten Reaktionsproduktes, wird aus den experimentellen Beobachtungen gefolgert. So vermehren sich beide Testkeime in Albumin und auch in gelösten Bakterientrümmern oder Nukleinsäurelösung. Versetzt man hingegen die gelösten Bakterientrümmern oder die Nukleinsäure mit Albumin, so entsteht ein antibakterieller Effekt.

Es fragt sich nun, ob solche Vorgänge, insbesondere im Rahmen des Herdgeschehens, auch im Organismus möglich sind. Dabei steht weniger der Gedanke an eine Erklärung der Bakterizidie des Blutes im Vordergrund, als vielmehr jene Frage wie, gegebenenfalls auch welche Zellen des Organismus sich dann anders verhalten.

Es bleibt anzunehmen, dass durch weitere Untersuchungen in dieser Richtung ätiopathogenetische Zusammenhänge rheumatischen Geschehens geklärt werden können.

Zusammenfassung:

1. Human Albumin spaltende Exo- oder Endo-Proteasen von Bakterien lassen sich elektrophoretisch nicht nachweisen.
2. Human Albumin wird durch Zugabe von Bakterienfragmenten im Sinne einer " Denaturierung " beeinflusst.
3. Staphylokokkus aureus und Bakterium Coli vermehren sich in 5 % Albuminlösung, ohne dass elektrophoretisch ein Nachweis vom Absinken des Albumingehaltes gelingt.
4. Im Nährboden aus 5 % Albumin vermischt mit Staphylokokkus aureus-Trümmern sinkt die Keimzahl zu Beginn der Bebrütung ab. Nach 3 1/2 Stunden ist die Einsaat erst wieder erreicht.
5. Versetzt man Albumin mit Nukleinsäure, dann sinkt die Keimzahl ab. Die Menge der Keime ist nach 24 Stunden noch wesentlich unter der Einsaat.
6. Aus nicht zu ermittelnden Bakteriensubstanzen und Albumin komplettiert sich ein antibakteriell wirkendes Agens.
7. Neue Gesichtspunkte: Es wird die Frage aufgeworfen, ob möglicherweise solche Produkte im Organismus entstehen und wie, auch welche Zellen des Körpers dann reagieren.
8. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung können vielleicht zur Klärung von Fragen der Aetiopathogenese rheumatischer Erkrankungen beitragen.

Literaturzusammenstellung:

1. Bingold, K.: zitiert nach Hiller W. und Schach H. (7)
2. Debray, M.; M. Gibelin; B. Papapert und C. Rivillain:
Traitement de la maladie de Bouillaud et de
la polyarthrite chronique évolutive par les
injections intra-artérielles d'un ana-vaccin-
streptococcique. (Die Behandlung des akuten
und chronischen Gelenkrheumatismus mittels
intraarterieller Streptokokkenvaccine).
La Presse medicale, Paris, 2, 183, 1954.
3. Galata, G.: Nuovi vedutti sulla etiologia e sulla cura
dell- infezione reumatica (Neue Erkenntnisse
über Aetiologie und Behandlung der rheumati-
schen Infektion). Rassegna clin. scient.
29, H. 7, 1953.
4. Grosse-Brockhoff: Einführung in die pathologische Phy-
siologie, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950.
5. Haurowitz,: Fortschritte in der Biologie 1949.
6. Hiller W. Beitrag zur Prophylaxe des Rheumatismus.
(Vortrag in Bad Wiessee zur Tagung der deut-
schen Gesellschaft für Rheumatologie und der
österreichischen Liga zur Bekämpfung des
Rheumatismus am 1. und 2. Oktober 1954)
Bericht in Zeitschrift für Rheumaforschung
13, (11/12), 357, 1954.
7. Hiller, W. und Schach, H.: Neue Erkenntnisse über Wir-
kungseffekt des menschlichen Albumins, Münch-
ner medizinische Wochenschrift 96, 1083-1085
und 1118-1121, 1954.
8. Klinge : Erg. Pathol. 27, 1933
Virch. Arch. 286, 344, 1932
Beide zitiert nach Störmer A.(20).
9. Loudon, I.S.L.: Polyarthritis in Rubella, (Gelenkrheu-
matismus bei Röteln), The British Medical
Journal (London), 4824, 1388, 1953.
10. Müller, Reiner: Lehrbuch der Hygiene, I. Teil allge-
meine Hygiene, II. Teil Medizinische Mikro-
biologie, Parasiten und Bakterien, beide
Teile Verlag Lehmann Berlin-München 1949
und 1950.

11. Pauling und Campbell: zitiert nach Grosse-Brockhoff (4).
12. Pribram: "Nothnagels spez. Pathol. u. Ther. V.2 (Wien) 1901" zitiert nach Störmer, A. (20).
13. Robinson, John J.: Failure to produce rheumatique fever in rabbits by prolonged and intensive streptococcus infection (Ein vergeblicher Versuch bei Kaninchen einen Rheumatismus durch längere, intensive Infektion mit Streptokokken hervorzurufen), Archives of Pathology (Chicago) 57, 516-522, 1954.
14. Rost, Georg: Allergie und Praxis, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1950.
15. Schmidt, H.: Fortschritte der Serologie. 2. Auflage, Steinkopff-Verlag, Darmstadt, 1955.
16. Schoen, R.: Beitrag zur Pathogenese rheumatischer Syndrome, Deutsche Medizinische Wochenschrift 77, 558, 1952.
17. Schoen, R.: Wege zur Prophylaxe des entzündlichen Rheumatismus. (Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie und der österreichischen Liga zur Bekämpfung des Rheumatismus am 1. und 2. Oktober 1954 in Wiessee). Bericht: Zeitschrift für Rheumaforschung 13, (11/12), 397, 1954.
18. Schoger (Schlangenbad): Die Erkennung der Nebenhöhlen-erkrankungen bei Serierendurchleuchtungen. Deutsche Medizinische Wochenschrift 79, 52, 1954.
19. Schuster, C.: Zur Erfolgsbeurteilung nach Herdsanierung Medizinische Klinik 48, 336, 1953.
20. Störmer, A.: Rheumatische und bakterielle Endokarditis. Ferdinand Enke-Verlag Stuttgart 1954.
21. Vorlaender, K.O., Fitting, W. und Blankenstein, H.: Auto-Allergie und Rheumatismus, Zeitschrift für Rheumaforschung 13, 276-296, 1954.

An weiteren Literaturen wurden benutzt:

Abderhalden, Rudolf: Vitamine, Fermente, Hormone.
Basel 1946.

Brugsch: Lehrbuch der inneren Medizin. Verlag Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien 1948.

Flaschenträger: Handbuch der physiologischen Chemie.

Habs, Horst : Bakteriologisches Taschenbuch, 32. Auflage
Johann Ambrosius Barth-Verlag, Leipzig
1943.

Hegler: Handbuch der inneren Medizin (Von Bergmann
und Staechelin), Verlag Springer
Leipzig 1934.

An dieser Stelle sei besonders Herrn Professor Dr. med. H i l l e r für die Ueberlassung des Themas und manchen Ratschlag zur Behebung experimenteller Schwierigkeiten gedankt.

Herrn Dr., Dr. S c h a c h gebührt Dank für Mithilfe bei der Einarbeitung der zur Durchführung der Untersuchungen notwendigen, bakteriologischen Arbeitsmethoden.

Lebenslauf :

Am 28. März 1920 kam ich in Bayreuth, als zweites von insgesamt fünf Kindern des Verwaltungsangestellten Max Widl und seiner Ehefrau Susanne, geborene Waldhäuser, zur Welt.

Nach dem Besuch der Volkshauptschule in Bayreuth, trat ich im Jahre 1931 an das dortige humanistische Gymnasium über. Am humanistischen Gymnasium in Bayreuth erwarb ich am 7. September 1946 mit Sonderbewilligung des Bayerischen Kultusministeriums in einem " Sonderkurs für Kriegsteilnehmer " das ordentliche Zeugnis der Reife, nachdem ich zum Zwecke des Wehrdienstes den Schulbesuch von 1938 bis 1946 unterbrochen hatte.

Die medizinischen Studien begann ich im Wintersemester 1947/48 an der Universität München. Zur Zeit der Währungsumstellung wurde zunächst das Studium von 1948 bis 1949 unterbrochen und dann abermals an der Universität München aufgenommen.

Am 22. April 1952 bestand ich vor dem Prüfungsausschuss der Universität München die ärztliche Vorprüfung und am 2. August 1955 beendete ich das medizinische Staatsexamen in München.

Die Anfertigung der Doktordissertation erfolgte an dem Institut der I. Medizinischen Universitätsklinik in München je zur Hälfte vor und nach dem medizinischen Staatsexamen.

